

ФИЗИЧЕСКАЯ ХИМИЯ
ПОВЕРХНОСТНЫХ ЯВЛЕНИЙ

УДК 544.77

СМЕШАННЫЕ МИЦЕЛЛЯРНЫЕ РАСТВОРЫ
ГЕКСАДЕЦИЛПИПЕРИДИНИЕВЫХ ПАВ И ТВИН 80: АГРЕГАЦИОННОЕ
ПОВЕДЕНИЕ И СОЛЮБИЛИЗАЦИОННЫЕ СВОЙСТВА

© 2020 г. А. Б. Миргородская^{а,*}, Р. А. Кушназарова^а, С. С. Лукашенко^а, Л. Я. Захарова^а

^а Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова – обособленное структурное подразделение
Федерального государственного бюджетного учреждения науки “Федеральный исследовательский центр “Казанский
научный центр Российской академии наук”, Казань, Россия

*e-mail: mirgoralla@mail.ru, mirgorod@iopc.ru

Поступила в редакцию 05.11.2019 г.

После доработки 28.11.2019 г.

Принята к публикации 21.01.2020 г.

Исследовано агрегационное поведение смешанных мицеллярных растворов катионных гексадецилпиперидиниевых ПАВ и неионного ПАВ – Твин 80. В условиях варьирования соотношения компонентов определены значения критической концентрации мицеллообразования, на основе которых можно судить об отрицательном отклонении от модели идеального смешивания (синергетический эффект). Оценены адсорбционные параметры и поверхностный потенциал смешанных мицелл. Спектрофотометрическим методом количественно охарактеризовано солюбилизирующее действие индивидуальных и смешанных композиций по отношению к гидрофобным биологически активным соединениям – биофлавоноиду кверцетину и системному фунгициду карбоксину.

Ключевые слова: смешанные мицеллы, солюбилизация, кверцетин, карбоксин

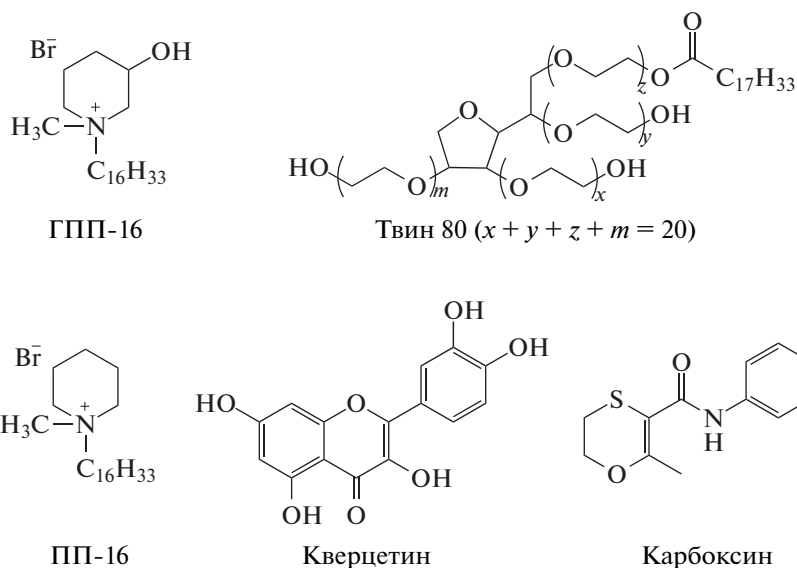
DOI: 10.31857/S0044453720090198

Поверхностно-активные вещества (ПАВ) находят широкое практическое применение в биотехнологиях, фармакологии и сельском хозяйстве в качестве солюбилизаторов, средств доставки биологически активных веществ, адъювантов, улучшающих свойства лекарственных препаратов и пестицидов [1–4]. Они обеспечивают лучшую растворимость препаратов в водных системах, тем самым увеличивая их биодоступность, улучшают смачивание поверхности и транспорт целевого вещества в клетки животных и растений. Значительную долю используемых для этих целей систем составляют мицеллярные растворы на основе низкотоксичных неионных ПАВ (Тритон-Х-100, Твин 20, Твин 80, амфифильные блок-сополимеры и др.) [5–8]. Однако зачастую эти соединения проигрывают по эффективности более токсичным катионным ПАВ. Последние проявляют высокое солюбилизирующее действие, которое обеспечивается не только за счет гидрофобных, но и электростатических сил, а при наличии в молекуле ПАВ функциональных фрагментов, могут подключаться и другие типы взаимодействий, в частности, образование водородных связей [9–11]. Нередко заряд мицеллы, используемой в качестве носителя действующего препарата, обеспечивает его лучший контакт с

биоповерхностями и биоорганизмами, повышая тем самым его эффективность [12–14]. Компромиссным решением в данном случае может быть использование бинарных систем, позволяющее сочетать достоинства двух типов амфифилов: пониженную токсичность за счет наличия неионных ПАВ и высокую эффективность за счет присутствия катионных ПАВ [15–17].

В продолжение цикла наших исследований катионных ПАВ, содержащих циклическую головную группу [18–22], в настоящей работе были протестированы смешанные мицеллярные растворы 1-метил-1-гексадецил-3-гидроксипиперидиний бромида (ГПП-16) и Твин 80. В условиях варьирования соотношения компонентов для бинарных растворов получен ряд агрегационных характеристик, а также испытано их солюбилизирующее действие на примере двух гидрофобных биологически активных соединений – биофлавоноида кверцетина и фунгицида карбоксина.

Для выяснения роли гидроксильного фрагмента параллельно проводили тестирование свойств незамещенного пиперидиниевого аналога 1-метил-1-гексадецилпиперидиний бромида (ПП-16). Формулы исследуемых соединений представлены ниже:



ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для исследования применяли Твин 80, кверцетин (Sigma-Aldrich), а также карбоксин (ООО “Август”) содержащие 99% основного вещества. Катионные ПАВ 1-метил-1-гексадецил-3-гидроксипиперидиний бромид (ГПП-16) и 1-метил-1-гексадецилпиперидиний бромид (ПП-16) синтезировали при взаимодействии N-метил 3-гидроксипиперидина или N-метилпиперидина с гексадецилбромидом в этаноле с последующей перекристаллизацией реакционной смеси по методике [22].

Агрегационные свойства пиперидиниевых ПАВ изучали тензиометрическим методом на тензиометре К6 фирмы KRUSS в условиях термостатирования растворов при 25°C. В условиях проведения эксперимента при рН исследуемых растворов 4.4–7.0 ГПП-16 находился в катионной форме.

Спектры поглощения растворов записывали в термостатируемых кварцевых кюветках с толщиной поглощающего слоя 1 см с помощью спектрофотометра Specord 250 Plus. Молекулярный коэффициент экстинкции (ϵ) солюбилизаторов в исследуемых растворах рассчитывали из значения оптической плотности (D) пробы в максимуме поглощения при заданной концентрации солюбилизатора (C) по уравнению $\epsilon = D/(LC)$, где L – толщина.

Поверхностный потенциал агрегатов оценивали спектральным методом, исследуя изменение кислотно-основных свойств индикатора (n -нитрофенола) в зависимости от концентрации ПАВ в соответствии с [23, 24]. Наблюдаемую величину

pK_a n -нитрофенола ($pK_{a,набл}$) вычисляли по уравнению Хендерсона–Хассельбаха

$$pK_{a,набл} = pH + \lg \frac{[\text{фенол}]}{[\text{фенолят}]} \quad (1)$$

В качестве константы диссоциации n -нитрофенола в мицеллярной фазе ($K_{a,м}$) принимали значение наблюдаемой константы диссоциации при $C_{ПАВ} \rightarrow \infty$.

Солюбилизационное действие мицеллярных систем в отношении гидрофобных соединений оценивали, определяя максимально достигаемое содержание кверцетина (или карбоксина) в растворах ПАВ по аналогии с [17, 24]. Способность ПАВ увеличивать транспорт карбоксина в растении испытывали на клубнях картофеля. Для этого клубни выдерживали в течение суток в 0.5 мМ растворе карбоксина без добавок или же с добавлением ПАВ (0.2 мас. %). После этого экстрагировали карбоксин из обработанного картофеля в бидистиллированную воду и спектрофотометрическим методом определяли содержание фунгицида в экстракте.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Критическая концентрация мицеллообразования (ККМ) является одной из ключевых характеристик растворов ПАВ, которая в большинстве случаев определяет границы их функциональной активности. Значения ККМ для бинарных систем ГПП-16/Твин 80 были определены на основании изотерм поверхностного натяжения (рис. 1). Полученные значения уменьшаются по мере роста неионного ПАВ в системе, однако изменение ККМ не подчиняется закону идеального смешения. Об этом можно судить, сопоставляя экспе-

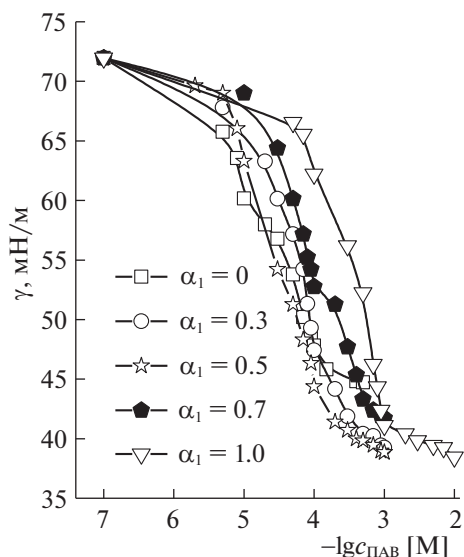


Рис. 1. Изотермы поверхностного натяжения для системы ГПП-16/Твин 80 при различном соотношении ПАВ, 25°C.

риментальные и расчетные значения, определенные в рамках модели Клинга [25]:

$$\frac{1}{C^*} = \frac{\alpha_1}{C_1} + \frac{\alpha_2}{C_2}, \quad (2)$$

где α_1 и α_2 – мольная доля ионного и неионного ПАВ в растворе; C^* , C_1 и C_2 – величины ККМ для смешанной системы, ионного и неионного ПАВ соответственно.

Отрицательное отклонение от поведения идеального смешивания (табл. 1, рис. 2) свидетельствует о наличии взаимного притяжения между разнотипными ПАВ в мицеллах (синергетический эффект) при этом эффект синергизма наиболее выражен в интервале значений α_1 от 0.4 до 0.6.

На основании тензиометрических данных (рис. 1) проведены расчеты адсорбционных пара-

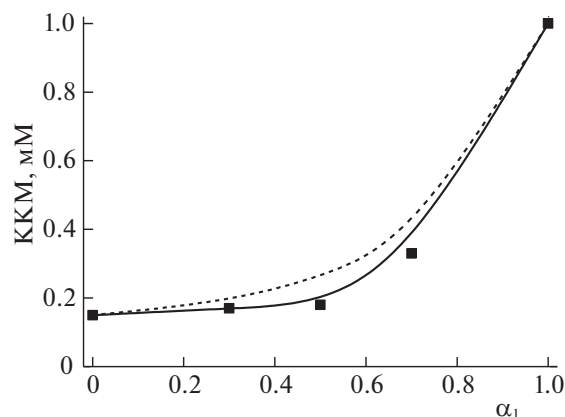


Рис. 2. Зависимость ККМ растворов смесей ПАВ от мольной доли ГПП-16: пунктирная линия – идеальная система; символы и непрерывная линия – экспериментальная зависимость.

метров изучаемых систем. Величину максимальной адсорбции (Γ_{\max}) и значение минимальной поверхности, приходящейся на молекулу ПАВ (A_{\min}), оценивали согласно уравнениям:

$$\Gamma_{\max} = \frac{1}{2.3nRT} \lim_{C \rightarrow \text{ККМ}} (d\pi/d \lg C), \quad (3)$$

$$A_{\min} = \frac{10^{18}}{N_A \Gamma_{\max}}, \quad (4)$$

где $R = 8.31$ Дж моль K^{-1} (газовая постоянная), π – поверхностное давление, равное разности поверхностного натяжения растворителя и раствора при заданной концентрации ПАВ (C), T – абсолютная температура (К). Параметр n принимает значение 2 для ионных ПАВ, состоящих из одновалентного мицеллообразующего иона и противоиона, N_A – число Авогадро (6.02×10^{23} моль $^{-1}$). Величину свободной энергии мицеллообразова-

Таблица 1. Значения ККМ, максимальной адсорбции (Γ_{\max}), минимальной поверхности в расчете на молекулу ПАВ (A_{\min}), свободной энергии мицеллообразования (ΔG_M), стандартной свободной энергии адсорбции ($\Delta G_{\text{ад}}$) и поверхностного потенциала (Ψ) для смешанных систем ГПП-16/Твин 80 в условиях варьирования соотношения ПАВ (α_1 – доля катионного ПАВ)

α_1	ККМ, мМ		A_{\min} , нм 2	$\Gamma_{\max} \times 10^6$, моль м $^{-2}$	ΔG_M , кДж моль $^{-1}$	$\Delta G_{\text{ад}}$, кДж моль $^{-1}$	pK $_a$	Ψ , мВ
	Тенз.	Рассч.						
0	0.15		1.47	1.13	-33.3	-56.4	7.6	~0
0.3	0.16	0.19	1.19	1.40	-32.8	-53.9	7.0	35
0.5	0.18	0.26	1.21	1.38	-33.3	-55.4	6.5	65
0.7	0.33	0.37	1.25	1.33	-30.3	-52.1	6.0	94
1.0	1.0		0.89	1.87	-26.1	-43.1	5.7	112

Примечание. pK $_a$ *n*-нитрофенола при $C_{\text{ПАВ}} = 5$ ККМ, используемое для оценки Ψ .

ния (ΔG_m) и стандартной свободной энергии адсорбции ($\Delta G_{ад}$) рассчитывали по уравнениям:

$$\Delta G_m = (1 + \beta)RT \ln(KKM), \quad (5)$$

$$\Delta G_{ад} = \Delta G_m - \frac{\pi_{ККМ}}{\Gamma_{max}}, \quad (6)$$

где β – степень связывания противоионов.

Полученные результаты представлены в табл. 1. Как и для большинства ПАВ, адсорбция и мицеллообразование исследуемых соединений, как в индивидуальных, так и в смешанных композициях, являются термодинамически выгодными процессами и протекают самопроизвольно (свободные энергии адсорбции и мицеллообразования принимают отрицательные значения). По мере увеличения доли неионного ПАВ в системе эти процессы облегчаются, что отражается в росте абсолютной величины значений ΔG_m и $\Delta G_{ад}$. Значения максимальной адсорбции увеличиваются по мере роста доли катионного ПАВ в системе, тогда как площадь, занимаемая молекулой ПАВ в насыщенном адсорбционном слое, уменьшается, что говорит о более плотной упаковке молекул в поверхностном слое.

Образование смешанных систем приводит к уменьшению заряда мицеллы. Для определения поверхностного потенциала (Ψ) мицелл нами использован метод, предусматривающий исследование спектральных свойств гидрофильных молекул-зондов, способных принимать участие в кислотно-основных равновесиях [23]. В качестве такого зонда был выбран *n*-нитрофенол, значения pK_a которого определяли из спектров, зарегистрированных при варьировании соотношения компонентов в системе ГПП-16/Твин 80 в диапазоне рН от 2 до 12 по аналогии с [24]. Сдвиг pK_a этого соединения в растворах ПАВ по сравнению с водой зависит прежде всего от электростатических взаимодействий, сила которых определяется поверхностным потенциалом мицеллы. Оценку величины поверхностного потенциала проводили по формуле:

$$pK_{a,m} = pK_{a,0} - F\Psi/2.303RT, \quad (7)$$

где $pK_{a,0}$ – неэлектростатическая составляющая, определяемая как $pK_{a,m}$ в мицеллярных растворах на основе неионных ПАВ, $F = 96485$ Кл моль⁻¹ – константа Фарадея, $R = 8.314$ Дж К⁻¹ моль⁻¹ – газовая постоянная.

Полученные значения Ψ в смешанной системе приведены в табл. 1. По мере роста содержания неионного ПАВ наблюдается падение поверхностного потенциала, которое описывается линейным уравнением

$$\Psi = 116\alpha_1 - 2.75 \quad (R = 0.989), \quad (8)$$

где α_1 – доля катионного ПАВ. Изменение заряда смешанной мицеллы при варьировании соотношения компонентов может служить важным фактором, определяющим ее способность к связыванию соединений-гостей, солюбилизационное действие, влияние на реакционную способность солюбилизатов, их кислотно-основные свойства и другие характеристики.

В настоящей работе было испытано солюбилизационное действие смешанных систем ГПП-16/Твин 80 по отношению к кверцетину. Это биологически активное вещество, обладающее антиоксидантным и противовоспалительным действием, практически нерастворимо в воде, однако добавление ПАВ может повысить его концентрацию в растворах. Солюбилизационное действие мицеллярных систем по отношению к кверцетину определяли, готовя серию его насыщенных растворов в условиях варьирования концентрации и соотношения ПАВ.

Контроль содержания кверцетина в исследуемых образцах проводили спектрофотометрическим методом. На подготовительном этапе было показано, что в растворах ГПП-16/Твин 80 при рН 4.4 максимум поглощения кверцетина независимо от соотношения ПАВ практически не меняется и лежит в пределах 374–376 нм, однако коэффициент экстинкции несколько возрастает с увеличением доли катионного ПАВ (табл. 2). В качестве примера на рис. 3 представлены спектры поглощения кверцетина в растворах ГПП-16/Твин 80 при мольном соотношении ПАВ 1 : 1. Значения солюбилизационной емкости индивидуальных и смешанных мицелл (S) были вычислены на основании концентрационных зависимостей оптической плотности (D) в максимуме поглощения образцов по уравнению $S = b/\epsilon$, где b – наклон зависимости $D/L = f(C)$ выше ККМ, L – толщина кюветы, C – концентрация ПАВ, ϵ – коэффициент экстинкции (рис. 4). Полученные результаты представлены в табл. 2. Из них следует, что солюбилизационная емкость ГПП-16 по отношению к кверцетину существенно выше, чем в случае Твин 80, что отражает положительную роль электростатических взаимодействий при связывании этого солюбилизата мицеллами ПАВ. Смесевые композиции характеризуются промежуточными значениями S . Аналогичная картина была получена при использовании для формирования смешанных композиций аналога ГПП-16, не содержащего гидроксигруппы – ПП-16 (табл. 2). Солюбилизационная емкость по отношению к кверцетину в этом случае несколько ниже, чем для систем на основе ГПП-16. Это позволяет предполагать, что эффективность солюбилизации кверцетина мицеллами определяется не только электростатическими и гидрофобными силами, но и специфическими взаимодействиями (водородное связывание).

Несколько иная картина наблюдается в случае солюбилизации другого исследованного гидрофобного соединения – фунгицида системного действия карбоксина. Это биологически активное вещество из класса производных оксатиина, применяемое в сельском хозяйстве для протравливания семян и клубней, подобно кверцетину плохо растворяется в воде. Процедура определения солюбилизационной емкости смешанных растворов была той же, что описана выше. В качестве аналитического сигнала принимали значение оптической плотности растворов в максимуме поглощения карбоксина 297 нм, положение которого остается постоянным во всех исследованных средах. Возрастание молекулярного коэффициента экстинкции, наблюдаемое при увеличении доли катионного ПАВ, было учтено при определении максимально достигаемого содержания карбоксина в растворе.

Данные для систем ГПП-16/Твин 80, полученные в условиях варьирования соотношения ПАВ, приведены в табл. 3. Из них следует, что присутствие ПАВ в растворе позволяет увеличивать содержание в нем карбоксина, но существенной разницы между солюбилизационным действием ПАВ различной природы обнаружить не удалось. Это позволяет предполагать, что в данном случае гидрофобные взаимодействия играют доминирующую роль. Принимая во внимание то обстоятельство, что практическое использование фунгицидов при обработке семян или клубней предполагает его эффективную адсорбцию на обрабатываемой поверхности и частичное проникновение внутрь растительного материала, а также то, что катионные ПАВ зачастую проявляют значительное сродство к биоповерхностям, мы протестировали ГПП-16 в качестве добавки в

Таблица 2. Солюбилизационная емкость смешанных мицеллярных растворов по отношению к кверцетину (рН 4.4) и коэффициент экстинкции солюбилизата в исследуемых растворах при 374 нм

Доля ионного ПАВ, α_1	ϵ_{374} , л М ⁻¹ см ⁻¹	S	
		ГПП-16/Твин 80	ПП-16/Твин 80
0	19000	0.040	0.040
0.3	19100	0.066	0.058
0.5	20500	0.153	0.137
0.7	19500	0.115	0.103
1	20000	0.240	0.180

растворы карбоксина для протравливания семенного картофеля перед посадкой. В соответствии с агрохимическими рекомендациями по применению карбоксина клубни картофеля выдерживали сутки в его 0.5 мМ водном растворе без добавок ПАВ или же с их добавлением в концентрации 0.2%, вес. Затем экстрагировали препарат и спектрофотометрическим методом определяли его содержание в экстракте. Было найдено, что содержание карбоксина в клубне весом 100 г составило 3.2 мг при обработке водными растворами без добавок ПАВ, 5.9 мг и 8.3 мг при использовании Твин 80 и ГПП-16, соответственно.

Смешанные системы характеризуются промежуточными значениями. Получаемые результаты могут зависеть не только от состава раствора для обработки, но и от свойств самого клубня, поэтому для оценки транспортных свойств ПАВ более корректно пользоваться относительными показателями. Из такого сопоставления следует, что при применении карбоксина в растворах ПАВ эффек-

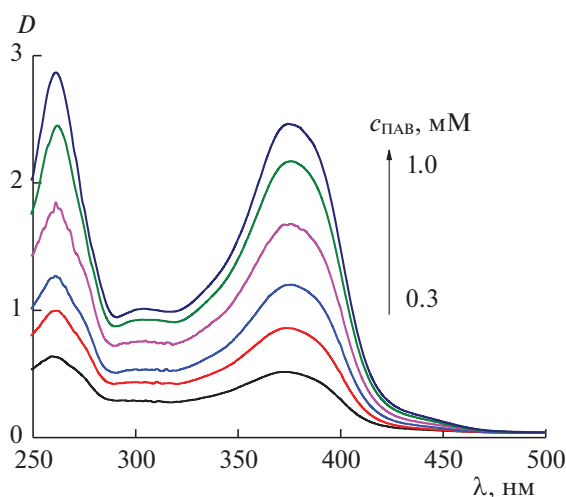


Рис. 3. Спектры поглощения насыщенных растворов кверцетина в зависимости от концентрации ПАВ (система ГПП-16/Твин 80, $\alpha_1 = 0.5$, рН 4.4, 25°C).

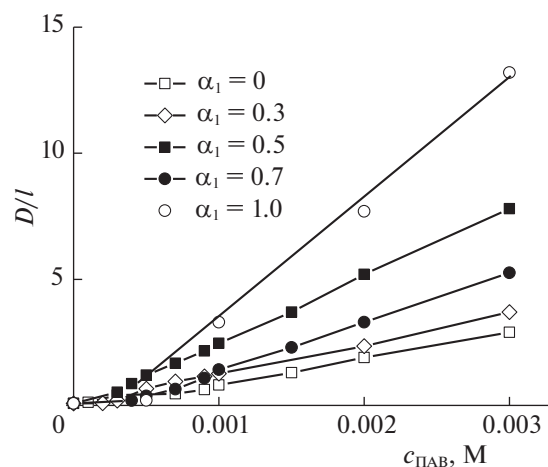


Рис. 4. Зависимости оптической плотности растворов ГПП-16/Твин 80, насыщенных кверцетином, от концентрации ПАВ (λ 375 нм, рН 4.4, 25°C).

Таблица 3. Солюбилизационная емкость смешанных мицеллярных растворов ГПП-16/Твин 80 по отношению к карбоксину (рН 4.4) и коэффициент экстинкции солюбилизата в исследуемых растворах при 297 нм

Доля ионного ПАВ, α_1	b^*	ϵ_{297} , л М ⁻¹ см ⁻¹	S
0	782	6800	0.115
0.3	594	6800	0.087
0.5	688	6800	0.101
0.7	525	6900	0.076
1	794	7300	0.109

Обозначения: b – угловой коэффициент зависимости $D = f(C_{\text{ПАВ}})$. Растворимость карбоксина в воде $\sim 5.7 \times 10^{-4}$ М.

тивность его возрастает по сравнению с водой в 1.7 раза для Твин 80 и в 2.5 раза для ГПП-16. Вероятно, это катионное ПАВ обеспечивает лучшую адсорбцию карбоксина на поверхности картофеля и в большей степени облегчает проникновение фунгицида внутрь клубня.

Таким образом, на примере системы ГПП-16/Твин 80 показана возможность создания смешанных композиций с пониженной токсичностью за счет наличия в ней неионных ПАВ и высокую эффективность за счет присутствия катионных ПАВ, характеризующихся значительным солюбилизационным действием и транспортными свойствами по отношению к гидрофобным веществам.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований и Правительства Республики Татарстан в рамках научного проекта № 18-43-160015.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Ezrahi S., Aserin A., Garti N.* // Adv. Colloid Interface Sci. 2019. V. 263. P. 95.
2. *Pandey V., Kohli S.* // Crit. Rev. Ther. Drug. 2018. V. 35. P. 99.
3. *Dollinger J., Schacht V.J., Gaus C. et al.* // Chemosphere. 2018. V. 209. P. 78.
4. *Räsch A., Hunsche M., Maila M. et al.* // Plant Physiol. Biochem. 2018. V. 132. P. 229.
5. *Bodratti A.M., Alexandridis P.* // Expert Opin. Drug Deliv. 2018. V. 15. P. 1085.
6. *Hu X., Gong H., Li Z. et al.* // J. Colloid Interface Sci. 2019. V. 541. P. 175.
7. *Solomonov A.V., Marfin Y.S., Rumyantsev E.V.* // Mater. Sci. Eng., C. Mater. Biol. Appl. 2019. V. 99. P. 794.
8. *Yadav S.R. Rajpurohit, Sharma S.* // Life Sci. 2019. V. 221. P. 362.
9. *Devinsky F., Pisárčik M., Lukáč M.* Cationic amphiphiles: Self-assembling systems for biomedicine and biopharmacy. Bratislava: Nova Science Publishers, 2017.
10. *Zakharova L.Ya., Kashapov R.R., Pashirova T.N. et al.* // Mend. Comm. 2016. V. 26. P. 457.
11. *Rizvi S.A., Shi L., Lundberg D. et al.* // Langmuir. 2008. V. 24(3). P. 673.
12. *Shukla T., Upmanyu N., Agrawal M. et al.* // Biomed. Pharmacother. 2018. V. 108. P. 1477.
13. *Dauil Ph., Lallemand F., Garrigue J.S.* // J. Pharm. Pharmacol. 2014. V. 66. P. 531.
14. *Shokri J., Nokhodchi A., Dashbolaghi A. et al.* // Int. J. Pharm. 2001. V. 228. P. 99.
15. *Sobczyński J., Chudzik-Rząd B.* Mixed micelles as drug delivery nanocarriers, in: Design and Development of New Nanocarriers Encapsulations. Ed. by Grumezescu A.M. Bucharest: Elsevier Inc., 2018. 331 p.
16. *Kumar A., Kaur G., Kansal S.K.* // J. Chem. Thermodyn. 2016. V. 93. P. 115.
17. *Mirgorodskaya A.B., Kushnazarova R.A., Lukashenko S.S. et al.* // J. Mol. Liq. 2019. V. 292. P. 111407.
18. *Mirgorodskaya A.B., Lukashenko S.S., Yatskevich E.I. et al.* // Prot. Met. Phys. Chem. Surf. 2014. V. 50. P. 538.
19. *Mirgorodskaya A.B., Yackevich E.I., Gabdrakhmanov D.R. et al.* // J. Mol. Liq. 2016. V. 220. P. 992.
20. *Vasilieva E.A., Lukashenko S.S., Voloshina A.D. et al.* // Russ. Chem. Bull. 2018. V. 67. P. 1280.
21. *Kuznetsova D.A., Gabdrakhmanov D.R., Lukashenko S.S. et al.* // J. Mol. Liq. 2019. V. 289. P. 111058.
22. *Mirgorodskaya A.B., Kushnazarova R.A., Lukashenko S.S. et al.* // Russ. Chem. Bull. 2019. V. 68. P. 328.
23. *Мчедлов-Петросян Н.О.* Дифференцирование силы органических кислот в истинных и организованных растворах. Харьков: Изд-во Харьковского национального ун-та им. В.Н. Каразина, 2004, 326 с.
24. *Mirgorodskaya A.B., Zakharova L.Ya., Khairutdinova E.I. et al.* // Colloids Surf. A. 2016. V. 510. P. 33.
25. *Clint J.H.* // J. Chem. Soc., Faraday Trans. I 1975. V. 71. P. 1327.